

RESUMEN

Las plantas de girasol (*Helianthus annuus* L.), aún crecidas en condiciones óptimas de cultivo, siempre presentan frutos de desarrollo incompleto (FDI), principalmente en las regiones centrales del capítulo, lo cual produce importantes mermas en el rendimiento del cultivo. El objetivo de este trabajo fue determinar cualitativa y cuantitativamente, en plantas de girasol crecidas en condiciones de campo, la oferta polínica intraplanta y su relación con la generación de FDI.

Los experimentos fueron realizados en dos años consecutivos, 2009 y 2010. Se utilizaron dos híbridos de girasol alto oleico comerciales Dekasol Oilplus 3845 y Dekasol Oilplus 3945. El primer año se trabajó con tres fechas de siembra y el segundo año con dos fechas de siembra. En ambos casos este procedimiento apuntó a tener diferentes condiciones de temperatura del aire y radiación solar durante el desarrollo reproductivo del cultivo. Las plantas se cultivaron bajo riego y fertilización en el Departamento de Agronomía-UNS (Bahía Blanca 38° 45' Lat. S; 62° 11' Long. O). En el último ensayo, se agregaron al estudio dos líneas endocriadas (HA-R2 y HA-89) y dos variedades de polinización abierta de girasol (Hopi y Havasupai). En los dos años se registró, durante el crecimiento del cultivo, la temperatura del aire, la radiación solar y la lluvia.

En ambos ensayos, la calidad y cantidad de polen se evaluó sectorizando el capítulo en tres regiones, externa, media e interna, cuyo espesor fue considerado como 1/3 de su radio total. En el primer año, para estimar calidad de polen, se evaluó el porcentaje de viabilidad postantesis del mismo mediante la tinción de Alexander. Asimismo se ajustó un medio de cultivo para germinación de polen *in vitro*. Para estimar cantidad de polen producido por las flores, se contaron los granos de polen por flor (GPF) en un momento cercano a la floración. Para determinar el grado de autocompatibilidad de los híbridos utilizados, se realizaron dos procedimientos: polinización cerrada (PC), donde los capítulos se cubrieron con cofias de malla antiáfido desde primera antesis hasta última antesis, evitando la acción de polinizadores y polinización abierta (plantas control). Una vez cosechadas las plantas se cuantificó el número frutos llenos, el número de FDI, el P₁₀₀₀ y la proporción de cuaje (PCuaj).

En el segundo año, se analizó la calidad del polen evaluando su viabilidad a lo que se sumó el estudio de la germinación del polen *in vitro*, utilizando el medio de cultivo ajustado el primer año y la germinación *in vivo*, observando el crecimiento del tubo

polínco en el estilo. También se estudió la cantidad de polen por flor midiendo, además, las dimensiones (largo y ancho) de las anteras.

En los dos años de estudio, en los dos híbridos utilizados y en todas las fechas de siembra, se observó una variación semejante en la cantidad de granos de polen producidos por flor según el sector del capítulo muestreado. Así entonces, la producción de polen de las flores fue mayor en el sector interno, luego en las del medio y por último, la cantidad más baja la produjeron las del sector externo. En el caso del segundo año de ensayo, además, las líneas endocriadas y las variedades de polinización abierta mostraron una respuesta similar.

Cuando se analizaron las dimensiones (largo y ancho) de las anteras, se observó que el sector interno fue el que mayores dimensiones de las anteras mostró, seguido por el sector medio y por último el sector externo. Esto se observó en los híbridos, líneas endocriadas y variedades de polinización abierta.

En el análisis de la viabilidad del polen en los dos años de ensayo, si bien se observaron algunas diferencias entre sectores del capítulo y fechas de siembra, los porcentajes fueron, en todos los casos muy altos, mayores al 97%. La prueba de germinación del polen *in vitro* durante el segundo año, mostró un mayor porcentaje en el sector interno del capítulo y en la segunda fecha de siembra. Con la estimación de la germinación del polen *in vivo* se observó que a las 48 horas de iniciada la floración, la mayoría de los tubos polínicos habían llegado al final del estilo.

Los tratamientos de cobertura permitieron demostrar que los dos híbridos utilizados presentaron baja autoincompatibilidad, no presentándose diferencias significativas en el número de FDI entre los tratamientos. Asimismo se observó que, aún cuando la mayor cantidad de granos de polen por flor y los más altos porcentajes de viabilidad y germinación *in vitro* e *in vivo* se detectaron en el sector interno del capítulo, este sector fue el que presentó la mayor cantidad de FDI.

Un hallazgo importante que surge de los resultados de este trabajo, es haber identificado un gradiente creciente centrípeto en el número de granos de polen por flor dentro de los capítulos de los híbridos estudiados.

El hecho de que en los genotipos primitivos de *Helianthus annuus* L. (Hopi y Havasupai), utilizados en este trabajo, se haya observado el mismo patrón cuantitativo intracápulos indica que esta característica sería propia del girasol y que podría expresarse bajo ciertas condiciones de crecimiento de las plantas.

Se concluye que, bajo las condiciones en las cuales se desarrollaron los experimentos, ni la autoincompatibilidad ni la cantidad y calidad del polen producido por las flores limitarían el rendimiento del girasol, y que las diferencias en el potencial de rendimiento se basan en el efecto de otros caracteres fisiológicos, no estudiados en este trabajo.

SUMMARY

Sunflower plants (*Helianthus annuus* L.), even grown under optimal culture conditions, always present seedless or incomplete developed fruits (IDF), mainly in the central regions of the capitulum, which produce significant reductions in crop yield. The aim of the present work was to determine the intraplant pollen offer, qualitatively and quantitatively, and its relationship with the generation of IDF in plants grown under field conditions.

Two commercial high-oleic sunflower hybrids Dekasol 3845 and Dekasol 3945 were sown under irrigation and fertilization in the Agronomy Department -UNSur (Bahia Blanca 38° 45' Lat. S; 62° 11' Long. O) Experiments were conducted during two consecutive growing seasons 2009 (three planting dates) and 2010 (two planting dates) to have different weather conditions during the reproductive stage. Two inbred lines (HA-R2 and HA-89) and two open-pollinated varieties of sunflower (Hopi and Havasupai) were added in the last experiment. Air temperature, solar radiation and rain were recorded throughout the whole period of study.

Pollen quality and quantity was determined taking into account three capitulum sectors, each one equal to 1/3 of the capitulum radius (external [ES], middle [MS] and internal [IS]). In the first year, postanthesis pollen viability was assessed using Alexander's stain. Also, a culture medium for *in vitro* pollen germination was adjusted. Pollen produced per floret (GPF) was counted. To determine whether hybrids had high or low levels of self-incompatibility, they were submitted to two pollination regimes: close pollination (CP) where capitula were covered with mesh bags from the first anthesis (FA) to the last anthesis (LA) avoiding the action of pollinators and open pollination (control plants). At harvest, the variables measured were: fully developed fruits, IDF, 1000 grains weight and fruit set proportion.

In the second year, the pollen quality was estimated by pollen viability, and pollen germination was evaluated *in vitro*, using the culture medium adjusted in the first year, and *in vivo* evaluating the pollen tube growth in style. Also, To determine the amount of pollen per flower anther size (length and width) were measured.

In all the cases throughout the present work, pollen grains per flower showed a similar variation in the production according to the capitulum sector sampled. Thus, the internal sector showed the highest pollen production followed by the middle sector and

the external one. Also, inbred lines and open pollinated varieties showed a similar response in the second study year.

Anther length and width in hybrids, inbred lines and open pollinated varieties showed differences among sectors, with the largest sizes in the internal sector followed by the middle sector and the external one.

Although some differences between capitulum sectors and planting dates were observed when analyzing pollen viability in both experimental years, percentages were, in all cases very high, greater than 97%. Testing *in vitro* pollen germination during the second year showed a higher percentage in the internal capitulum sector and in the second planting date. Estimation of *in vivo* pollen germination showed that most pollen tubes reached the end of the style after 48 hours of the initiation of flowering.

Covering treatments allowed demonstration of low self-incompatibility between the two hybrids used, with no significant differences in the number of IDF among treatments. Also, the largest number of IDF was produced in the internal sector of the capitulum in spite of having the largest number of pollen grains per flower and the highest percentages of viability and *in vitro* and *in vivo* germination.

A remarkable finding in this work was to define the existence of a positive centripetal quantitative gradient of pollen grains per flower in the capitula of the hybrids here studied.

The fact that the early genotypes of *Helianthus annuus* L. (Hopi y Havasupai), used in the present work showed the same intracapitula quantitative pattern indicates that this feature would be characteristic of the sunflower plant and that it would express, under certain plant growth conditions.

Results of the present work suggest that at least under the conditions in which the experiments were conducted, neither the self-incompatibility, nor pollen quantity and quality would limit the sunflower yield. Differences in the yield potential are based on the effect of other physiological variables which have not been studied here.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Agüero, M.E., V.R. Pereyra, L.A.N. Aguirrezábal y J. Lúquez. 1999. Rendimiento de grano y porcentaje de aceite de híbridos de girasol “alto oleico” cultivados en Argentina. *Agriscientia* 16: 49-53.
- Aguirrezábal, LA., G. Orioli, L.F. Hernández, V. Pereyra y J.P. Miravé. 1996. Girasol. Aspectos fisiológicos que determinan el rendimiento. Editorial Unidad Integrada Balcarce, Balcarce, Argentina. pp. 13-27.
- Aguirrezábal, L.A.N y V.R. Pereyra. 1998. Girasol. En: Calidad de Productos Agrícolas. Bases ecofisiológicas, genéticas y de manejo agronómico. L.A.N. Aguirrezábal y F.H. Andrade (Eds.). Editorial FCA-UNMdP-INTA EEA Balcarce. p. 139-191.
- Alexander, M.P. 1969. Differential staining of aborted and non-aborted pollen. *Stain Technol.* 44:117–122.
- Alexander, M.P. 1980. A versatile stain for pollen, fungi, yeast, and bacteria. *Stain Technol.* 55:13–18.
- Alkio, A. y E. Grimm. 2003. Vascular connections between the receptacle and empty achenes in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *J. Exp. Bot.* 54: 345-348.
- Apro, N.J., J. Rodríguez y H. Martinuzzi. 2004. Desarrollo del proceso, producción y exportación de aceite de girasol alto oleico orgánico. 5 ta. Jornada de desarrollo e innovación, INTI (www.inti.gov.ar)
- ASAGIR. 2008. Red Nacional del INTA de Evaluación de Cultivares Comerciales con Calidades Especiales. Cuadernillo Informativo No. 14.
- ASAGIR (2011). Sitio oficial de la Asociación Argentina de Girasol: <http://www.asagir.org.ar>

- Ashman, T. y M.S. Hitchens. 2000. Dissecting the causes of variation in intra-inflorescence allocation in a sexuality polymorphic species, *Fragaria virginiana* (Rosaceae). *Am. J. of Bot.* 87:197-204.
- Astiz, V. 2009. Cuantificación de frutos con desarrollo completo e incompleto (FDI) en dos genotipos híbridos de girasol (*Helianthus annuus* L.) con respuesta diferencial a la autocompatibilidad, expuestos a polinizadores diurnos o nocturnos. Trabajo de Intensificación, DA-UNS, 42 pp.
- Astiz, V., P. Marinángeli, A.C. Fernández y L.F. Hernández. 2010. Biología polínica, fecundación y rendimiento en genotipos híbridos de girasol (*Helianthus annuus* L.) “alto oleico”. Taller de ASAGIR 2010, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.
- Barrow, J.R. 1983. Comparisons among pollen viability measurement methods in cotton. *Crop Sci.* 23:734–736.
- Bervillé, A. 2010. Oil composition variations. En: Genetics, Genomics and Breeding of sunflower. J. Hu *et al.* (Eds.), Ed. Science Publishers, p. 253-275.
- Bots, M. y C. Mariani. 2005. Pollen viability in the field. Report de la Commissie Genetische Modificatie, Univ of Nijmegen, COGEM report (CGM 2005-05), 52 pp.
- Brooking, I.R. 1979. Male sterility in *Sorghum bicolor* induced by low night temperature. II. Genotypic differences in sensitivity. *Aust. J. Plant Physiol.* 6:143-147.
- Buide, M.L. 2004. Intra-inflorescence variation in floral Traits and Reproductive success of the Hermaphrodite *Silene acutifolia*. *Ann. of Bot.* 94: 441-448.
- Buide, M.L. 2008. Disentangling the causes of intrainflorescence variation in floral traits and fecundity in the hermaphrodite *Silene acutifolia*. *Am. J. of Bot.* 95: 490-497.

- Burd, M. 1994. Bateman`s principle and plant reproduction: the role of pollen limitation in fruit and seed set. *Bot. Rev.* 60:83-139.
- Caldwell, M.M., A.H. Teramura y M. Tevini. 1989. The changing solar ultraviolet climate and the ecological consequences for higher plants. *Trends in Ecol. and Evol.* 4:363-367.
- Cantagallo, J.E. 2000. Causas de la reducción de número potencial de frutos llenos en girasol (*Helianthus annuus* L.) por estrés lumínico. Tesis M. Sc. Universidad de Buenos Aires, 100 pp.
- Carrera, A., G. Tranquilli y M. Helguero. 2004. Aplicaciones de marcadores moleculares. En: *Biotecnología y mejoramiento vegetal.* 2:149-160.
- Conner, J.K. y L.A. Zaingori. 1997. A garden study of the effects of ultraviolet-B radiation on pollination success and lifetime female fitness in *Brassica*. *Oecologia* 111:388-395.
- Connor, D.J. y A.J. Hall. 1997. Sunflower Physiology. En: *Sunflower Science and Technology.* J. Carter (Ed.), American Society of Agronomy, Madison, WI, USA. pp. 113-182.
- Dafni, A. 1992. *Pollination Ecology. A practical approach.* Oxford University Press. pp. 82-89.
- Dafni, A. y D. Firmage. 2000. Pollen viability and longevity: practical, ecological and evolutionary implications. *Plant Syst. Evol.* 222: 113-132.
- DeGrandi-Hoffman, G. y M. Chambers. 2006. Effects of Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Foraging on Seed Set in Self-Fertile Sunflowers (*Helianthus annuus* L.). *Environmental Entomol.* 35:1103-1108.

- Demchik, SM. y T.A. Day. 1996. Effect of enhanced UV-B radiation on pollen quantity, quality, and seed yield in *Brassica rapa* (Brassicaceae). *Am. J. of Bot.* 83: 573-579.
- Diaz-Zorita, M. y A. Duarte. 2002. Manual Práctico para el Cultivo de Girasol en Siembra Directa. INTA. pp. 32.
- Diggle, PK. 1995. Architectural effects and the interpretation of patterns of fruit and seed development. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 26:531-552.
- Di rienzo J.A., F. Casanoves, M.G. Balzarini, I. Gonzalez, M. Tablada y C.W. Robledo. 2008. *InfoStat, versión 2008*, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Dombos Jr., D.L. y R.E. Muller. 1992. Soybean seed protein and oil contents and fatty acid composition adjustments by drought and temperature. *J. of Am. Oil Chem. Soc.* 69: 228-231.
- Doddamani, I.K., S.A. Patil y R.L. Ravikumar. 1997. Relationship of autogamy and self fertility with seed yield and yield components in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Helia* 20: 95-102.
- Duca, M., A. Port y T. Rotaru. 2007. Spatial and temporal distribution of auxins and gibberellins in sunflowers (*Helianthus annuus* L.). *Helia*, 30. 47: 27-36.
- Duca, M., A. Port, M. Orozco-Cardenas and C. Lovatt. 2008. Giberrellin-induced gene expression associated with cytoplasmic male sterility in sunflower. *Biotechnol Biotech. Eq.* 22:691-698.
- Egli, D.B. 1998. Seed biology and the yield of grain crops. CAB Int., Wallingford, UK. 184 pp.
- FAPAS- Fondo para la protección de los animales salvajes. Instalación de un colmenar. 2008. (www.fapas.es)

- Fernandez-Martinez, J., A. Jimenez, J. Dominguez, J. Magarcia, R. Garces y M. Mancho. 1989. Genetic analysis of the high oleic acid content in cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Euphytica* 41:39-51.
- Flint, S.D. y M.M. Caldwell. 1984. Partial inhibition of in vitro pollen germination by simulated solar ultraviolet-B radiation. *Ecology* 65:792-795.
- Franchi, G.G., M. Nepi, A. Dafni y E. Pacini. 2002. Partially hydrated pollen: taxonomic distribution, ecological and evolutionary significance. *Plant Syst. and Evol.* 234:211-227.
- Franchini, M.C. 2008. Desarrollo de la cutícula y de las ceras epicuticulares del pericarpio de frutos de plantas de girasol (*Helianthus annuus* L.) crecidas en condiciones naturales bajo dos regímenes hídricos. Tesis de Magister, Depto. de Agronomía, UNS, 83 pp.
- Fratini, R., P. Garcia y M.L. Ruíz. 2006. Pollen and pistil morphology, *in vitro* pollen grain germination and crossing success of Lens cultivars and species. *Plant Breeding* 125: 501-505.
- Galen, C. y M.L. Stanton. 2003. Sunny-side up: flower heliotropism as a source of parental environmental effect on pollen quality and performance in the snow buttercup, *Ranunculus adoneus* (Ranunculaceae). *Am. J. Bot.* 90: 724-729.
- Garcés, R. y M. Mancha. 1991. In vitro oleate desaturase in developing sunflower seeds. *Phytochem.* 30: 2127-2130.
- Garcés, R., C. Sarmiento y M. Mancha. 1992. Temperature regulation of oleate desaturase in Sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds. *Planta* 186: 461-465.
- Godini, A. 1979. Counting pollen grains of some Almond cultivars by means of an haemocytometer. CIHEAM- Options Mediterraneennes. Instituto di Coltivazioni. *Arboree*, Università di Bari. pp. 83-86.

- Greissl, R. 1989. Viality analysis of monadic and polyadic pollen grains using optical contrast-fluorescence microscopy. *Sci. Tecg. Inform.* 15: 180-184.
- Heiser, C. 1951. The sunflower among the North American Indians. *Proc. Am. Philos. Soc* 95: 432–448.
- Hernández, L.F. 1983. Estudios sobre el desarrollo de los frutos de girasol (*Helianthus annuus* L.) y su respuesta a factores de estrés. Tesis de Magíster en Producción Vegetal. Universidad Nacional del Sur, Argentina. 178 pp.
- Heslop-Harrison, J., Y. Heslop-Harrison y K.R. Shivanna. 1984. The evaluation of pollen quality and a further appraisal of the fluorochromatic (FCR) test procedure. *Theor. Appl. Genet.* 67:367-375.
- Heslop-Harrison, Y. 2000. Control gates and micro-ecology: The pollen-stigma interaction in perspective. *Ann of Bot.* 85 Suppl. A: 5-13.
- Hoekstra, F.A., J.H. Crowe y L.M. Crowe. 1991. Effect of sucrose on phase behavior of membranes in intact pollen of *Typha-Latifolia* L. As measured with fourier transform infrared spectroscopy. *Plant Physiol.* 97:1073-1079.
- Inouye, D.W., D.E. Gill, M.R. Dudash y C.B. Fenster. 1994. A model and lexicon for pollen fate. *Am. J. Bot.* 81:1517-1530.
- Ivanov, I.G. 1975. Study of compatibility and incompatibility display in crossing selfed sunflower lines. (In Bulgarian.) *Rastenievud Nank.* 12: 36-40.
- Kabbaj, A, A. Abbot y A. Bervillé. 1996. Expresion of stearate, oleate and linoleate desaturase genes in sunflower whit normal and high oleic content. Proceeding of the 14 th International Sunflower Conference, Beijing, Shenyang, China 1: 60-65.
- Kaleem S., Fallas-ul-Hassan y A. Saleem. 2009. Influence of environmental variation on phisiological attributes of sunflower. *Afr. J. of Biotechnol.* 8: 3531-3539.

- Khatun, S. y T.J. Flowers. 1995. The estimation of pollen viability in rice. *J. Exp. Bot.* 46: 151–154.
- Krurk, B. y E.H. Satorre. 2004. Densidad y arreglo espacial del cultivo. En Producción de granos. Bases funcionales para su manejo. Editorial Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. pp. 279-316.
- Kumar, G. y P. Srivastava. 2009. Gibberellic acid-induced pollen mortality and abnormal microsporogenesis in Safflower. *Cytologia.* 74:171-176.
- Kunin, W.E. 1997. Population size and density effects in pollination: pollinator foraging and plant reproductive success in experimental arrays of *Brassica Kaber*. *J. Ecol.* 85:225-234.
- Lalonde, S., D.U. Beebe y H.S. Saini. 1997. Early signs of disruption of wheat anther development associated with the induction of male sterility by meiotic-stage water deficit. *Sexual Plant Rep.* 10:40-48.
- Larson, B.M.H. y S.C.H. Barret. 2000. A comparative analysis of pollen limitation in flowering plants. *Biol. J. Linn. Soc.* 69:503-520.
- Li, C., M. Yu, F. Chen y S. Wang. 2010. *In vitro* maturation and germination of *Jatropha curcas* microspores. *Int. J. Agric. Biol.* 12:541–546.
- Lindström, L.I., M.E. García y L.F. Hernández. 2004. Morphology and distribution of incompletely developed fruits in sunflower (*Helianthus annuus* L.) capitula. XVI Int. Sunflower Conf. Procs., Fargo, USA, ISA, p. 333-337.
- Lobello, G., M. Fambrini, R. Baraldi, B. Lercari y C. Pugliesi. 2000. Hormonal influence on photocontrol of the protandry in the genus *Helianthus*. *J. Exp. Bot.* 51: 1403-1412.

- McLaren N.W. y F.C. Wehner. 1992. Pre-flowering low temperature predisposition of sorghum to sugary disease (*Claviceps africana*). *J. Phytopathol.* 135:328-334.
- Medan, D., M. Chamer, M. Devoto, N. H. Montaldo, A. I. Mantese, N. J. Bartoloni, A. Roig - Alsina y S. Leguizamón. 2003. ¿Necesitan polinizadores los girasoles argentinos?. *II Congreso Argentino de Girasol*, ASAGIR. Buenos Aires 12-13 de Agosto.
- Melgarejo, M. 2003. Girasol. Usos. Semilla, aceite, pellets, nutrición. ASAGIR, Cuadernillo Informativo No. 4. pp. 32-33.
- Muñoz Fernández, N. 1994. Obtención de haploides ginogenéticos en girasol (*Helianthus annuus* L.). Universidad Politécnica de Madrid. Departamento: Producción Vegetal: Fitotecnia Programa de Doctorado Programa: Fitotecnia. En: Tesis.com.es; tesis publicadas en España desde 1977.
- Murphy, T.M. 1983. Membranes as targets of ultraviolet radiation. *Physio. Plant.* 58:381-388.
- Nepi, M., G.G. Franchi y E. Pacini. 2001. Pollen hydration status at dispersal: cytophysiological features and strategies. *Protoplasma* 216:171-180.
- Ortega E., F. Dicenta y J. Egea. 2006. Influence of washing pollinated stigmas on fertilization in almond. *ISHS Acta Horticulturae* 726: IV International Symposium on Pistachios and Almonds.
- Oz, M., A. Karasu, I. Cakmak, A.T. Goksoy y Z. M. Turan. 2009. Effects of honeybee (*Apis mellifera*) pollination on seed set in hybrid sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Afr. J. Biotechnol.* 8: 1037-1043.
- Ploschuck , E.L. y A.J. Hall. 1995. Capitulum position in sunflower affects grain temperature and duration of grain filling. *Field Crops Res.* 44: 111-117.
- Putt, E.D. 1940. Observations on morphological characters and flowering processes in the sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Sci. Agric.* 21:167-179.

- Rao, G.U., A. Jain y K.R. Shivanna. 1992. Effects of high temperature stress on brassica pollen viability germination and ability to set fruits and seeds. *Ann. of Bot.* 69:193-198.
- Read, S. M., A.E. Clarke y A. Bacic. 1993. Stimulation of growth of cultured *Nicotiana tabacum* W 38 pollen tubes by poly(ethylene glycol) and Cu_(II) salts. *Plant Cell Biology Research Centre, School of Botany, University of Melbourne, Parkville, Victoria, Australia.* 177: 1-14.
- Rosell P., M. Herrero y V. Galán Saúco. 1999. Pollen germination of cherimoya (*Annona cherimola* Mill.). In vivo characterization and optimization of in vitro germination. *Sci. Hort.* 81: 251-265.
- Rosbaco, I. (2005). Revista Agromensajes. Editada por la Universidad Nacional de Rosario, Facultad de Ciencias Agrarias. www.fcagr.unr.edu.ar
- Santos, A., J.M. Almeida, I. Santos y R. Salema. 1998. Biochemical and ultrastructural changes in Pollen of *Zea mays* L. Grown under enhanced UV-B radiation. *Ann. of Bot.* 82: 641-645.
- Sato, S., M.M., Peet y J.F. Thomas. 2002. Determining critical pre- and post-anthesis period of physiological processes in *Lycopersicon esculentum* Mill. exposed to moderately elevated temperatures. *J. of Exp. Bot.* 53: 1187-1195.
- Schneiter, A.A. y J.F. Miller. 1981. Description of Sunflower Growth Stages. *Crop Sci.* 21: 901-903.
- Seiler, G.J. 1997. Anatomy and morphology of sunflower. En: *Sunflower Science and Technology*. J. Carter (Ed.), American Society of Agronomy, Madison, WI, USA. pp. 67-111.

- Shell, G.S.G. y R.G. Lang. 1976. Movements of sunflower leaves over a 24-h period. *Agric. Meteorol.* 16: 161–170.
- Shivanna, K.R. y J. Helsop-Harrison. 1981. Membrane state and pollen viability. *Ann. of Bot.* 47:759-770.
- Shivanna, K. R., H. F. Linskens y M. Cresti. 1991. Pollen viability and pollen vigor. *Theoret. Appl. Gen.* 81: 38-42.
- Smith, CA y W.E. Evenson. 1978. Energy distribution in reproductive structures of *Amaryllis*. *Amer. J. Bot.* 65:714-716.
- Soil Survey Staff. 1999. Soil taxonomy: a basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys (2^a Ed.). Washington, DC: US Department of Agriculture Soil Conservation Service.
- Speranza, A., G.L. Calzoni y E.L. Pacini. 1997. Occurrence of mono- or disaccharides and polysaccharide reserves in mature pollen grains. *Sexual Plant Repr.* 10:110-115.
- Stanley R.G. y H.F. Linskens. 1974. Pollen. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York.
- Stapleton A.E. y V. Walbot. 1994. Flavonoids can protect maize DNA from the induction of ultraviolet radiation damage. *Plant Physiol.* 105:881-889.
- Stephenson, A.G. 1981. Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Ann. Rev. of Ecol. and Syst.* 12: 253–279.
- Torabinejad, J., M.M. Caldwell, S.D. Flint y S. Durham. 1998. Susceptibility of pollen to UV-B radiation: an assay of 34 taxa. *Amer. J. Bot.* 85:360-369.
- Trápani, N., M. López Pereira, V. Sadras y A. Hall. 2004. Ciclo ontogénico, dinámica del desarrollo y generación del rendimiento y la calidad en girasol. En:

Producción de granos. Bases funcionales para su manejo. E. Satorre et al. (Eds.), Ed. Facultad de Agronomía UBA, p. 205-241.

Urie, A.L. 1985. Inheritance of high oleic acid in sunflower. *Crop Sci.* 25:986-989.

Vaknin, Y., N. Barr y Y. Saranga. 2008. Preliminary investigations into the significance of floral applications of calcium, boron and polyphenols for increased seed set in confection sunflowers (*Helianthus annuus* L.). *Field Crops Res.* 107: 155-160.

Valla, J.J. 1995. Botánica: Morfología de las plantas superiores. Ed. Hemisferio Sur, p. 229-230.

van Bilsen, D., Hoekstra F.A., Crowe L.M., Crowe J.H. 1994. Altered phase behavior in membranes of aging dry pollen may cause imbibitional leakage. *Plant Physiol.* 104:1193-1199.

van Hout, R. , M. Chamecki, G. Brush, J. Katz y M.B. Parlange. 2008. The influence of local meteorological conditions on the circadian rhythm of corn (*Zea mays* L.) pollen emission. *Agric. Forest Meteorol.* 148: 1078-1092.

Velasco, L. y J.M. Fernández-Martínez. 2002. Breeding oilseed crops for improved oil quality. *J. of Crop Prod.* 5: 309-344.

Vithanage, H.I. M.V. y R.B. Knox. 1977. Development and cytochemistry of stigma surface and response to self and foreign pollination in *Helianthus annuus* L. *Phytomorphol.* p. 168-179.

Wada, N. 1999. Factors affecting the seed-setting success of *Dyas octopetala* in front of Broggerbreen (Brogger Glacier) in the high Arctic, Ny-Alesund, Svalbard. *Polar Res.* 18:261-268.

Whelan, E.D.P. 1978. Cytology and interespecífica hybridation. En: *Sunflower science and technology.* J. F. Carter (ed.). Agron. Monogr. 19. ASA, CSSA, y SSSA, Madison, WI. pp. 339-369.

Wilcock, C. y R. Neiland. 2002. Pollination failure in plants: why it happens and when it matters. *Trends in Plant Sci.* 7: 270-277.

Wyatt, R. 1982. Inflorescence architecture: how flower number, arrangement and phenology affect pollination and fruit-set. *Amer. J. Bot.* 69: 585-594.

Xanthopoulos, F.D. 1991. Seed set and pollen growth in sunflower styles. *Helia* 14: 64-72.

8. APÉNDICE I

Producción científica emergente de esta Tesis:

PUBLICACIONES INTERNACIONALES

Astiz, V., L.A. Iriarte, A. Flemmer and L.F. Hernández. 2010. Self-compatibility in modern hybrids of sunflower (*Helianthus annuus* L.). Fruit set in open and self-pollinated (bag isolated) plants grown in two different locations, Helia (enviado)

CONGRESOS INTERNACIONALES

Astiz, V., A.C. Fernández, P. Marinángeli y L.F. Hernández, Germinación in vitro del polen trinucleado de Girasol (*Helianthus annuus* L.). Formulación de un medio de cultivo. 4-10 de Octubre de 2010. X Congreso latinoamericano de Botánica, La Serena, Chile.

Astiz, V., A.C. Fernández, P. Marinángeli¹, A. Flemmer y L.F. Hernández. Studies of intraplant pollen supply in modern and wild genotypes of sunflower (*Helianthus annuus* L.). 27-29 de Junio de 2011. 10th International Pollination Symposium, Universidad de las Américas Puebla, Cholula, Mexico.

Astiz, V., A. Flemmer and L.F. Hernández. Can the intraplant pollen offer be related with fruit set failures in sunflower (*Helianthus annuus* L.)? Studies in modern hybrids and cross-pollinated varieties. 27 de Febrero a 1 de Marzo del 2012. 18th International Sunflower Conference, Mar del Plata y Balcarce, Argentina.